

QUY TRÌNH

ĐỊNH LƯỢNG APO E(MÁU)

I. NGUYÊN LÝ

Các protein có trong dịch cơ thể người tạo thành các phức hợp miễn dịch trong phản ứng hóa miễn dịch với các kháng thể đặc hiệu. Những phức hợp này phát tán một chùm ánh sáng đi qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỷ lệ thuận với nồng độ của protein có liên quan trong mẫu. Đánh giá kết quả bằng cách so sánh với một mẫu chuẩn có nồng độ đã biết.

Apo E có trọng lượng phân tử 34000 dalton và được tổng hợp ở gan. Khoảng 10-20% của tổng số protein trong lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) chứa Apo E. Tăng nồng độ Apo E cho thấy sự tăng của sản phẩm giáng hóa tạo chứng xơ vữa động mạch của Chylomicron và VLDL. Cùng với xét nghiệm Apo B, xét nghiệm Apo E có thể là một thông số để tầm soát bệnh tăng lipoprotein huyết tuýp III (hyperlipoproteinaemias) .

II. CHUẨN BỊ

1. Cán bộ thực hiện: 01 Bác sỹ hoặc 01 cán bộ đại học và 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Máy phân tích: BN ProSpec- hãng Siemens

Máy ly tâm

Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm

Pipet các loại

Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

Thuốc thử N Antiserum to Human Apolipoprotein E: được sản xuất bởi sự tạo miễn dịch của thỏ đối với Apo E người đã được làm tinh khiết.

Hóa chất phụ N Supplementary Reagent A: chứa 5-chloro-2-methyl-4-isothiazole-3-one: 6mg/L và 2-methyl-4-isothiazole-3-one: 2mg/L

Hóa chất có thể bị tạo tủa hoặc bị đục mà không phải do nhiễm khuẩn. Trường hợp này nên được lọc với kích thước lỗ lọc 0.45 μ m trước khi dùng.

Hóa chất được ổn định đến ngày ghi trên nắp hộp với điều kiện không mở nắp và bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C. Độ ổn định sau khi mở, bảo quản 2-8°C trong lọ đóng kín là 4 tuần.

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

Ống nghiệm;

Găng tay, nước rửa tay, khăn lau tay, khẩu trang;

Bông, cùn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu, dây ga rô.

3. Người bệnh: Cần giải thích mục đích của xét nghiệm để bệnh nhân và người nhà bệnh hiểu, từ đó có thể hợp tác trong quá trình lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về bệnh nhân bao gồm họ tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, ngày giờ chỉ định, ngày giờ lấy mẫu, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm và xử lý mẫu bệnh phẩm

Thực hiện trên mẫu máu: huyết thanh, huyết tương heparin.

Mẫu huyết thanh cần được làm đông hoàn toàn và sau khi li tâm không được chứa bất kỳ hạt nhỏ nào hoặc dấu tích của fibrin. Mẫu mỡ máu hoặc bị đục sau khi đã đông cần được làm trong bằng ly tâm (10 phút ở 15,000 x g).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dụng cụ chuẩn: dựa trên 6 điểm với các nồng độ khác nha.

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu máu có thể sử dụng càng sớm càng tốt, hoặc bảo quản 2-8 độ C không quá 7 ngày hoặc được giữ đông dưới -20 độ C.

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của bệnh nhân); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích

Mẫu sẽ tự động được pha loãng 1:20 với N Diluent và phải được dùng trong vòng 4 giờ.

Nếu kết quả ngoài khoảng, xét nghiệm lặp lại với mẫu được pha loãng cao hơn hoặc thấp hơn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng tham chiếu cho mẫu huyết tương và huyết thanh được thu thập trên 369 người khỏe mạnh:

| | | |
|---------|-----------|-----------------------|
| Protein | Trung vị | Bách phân vị 2.5-97.5 |
| Apo E | 0.035 g/L | 0.023 - 0.063 g/L |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả: tán huyết hoặc mỡ máu, mẫu bị đục sau khi rã đông

Xử trí:

Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại, yêu cầu lấy mẫu máu khác để xét nghiệm.

Mẫu bị đục sau khi rã đông cần được làm trong bằng ly tâm (10 phút ở 15,000 x g). Mẫu chứa mỡ máu hoặc bị đục mà không làm trong được bằng ly tâm cần được loại bỏ.